

# اثر وابستگی به مرفین بر یادگیری و حافظه فضایی موش صحرایی نر

## چکیده

زمینه و هدف: اعتیاد به اپیوئیدها، پدیده‌ای با دلایل و عواقب پیچیده فیزیولوژیکی و اجتماعی است. مکنیسم‌های دقیق ایجاد وابستگی و عود آن نامشخص است. در سالهای اخیر از بین چندین مکانیسم احتمالی، نقش یادگیری و حافظه در وابستگی به اپیوئیدها و عود آن مورد توجه خاص قرار گرفته است. لذا، در مطالعه حاضر اثر وابستگی به مرفین، ناشی از تزریق مکرر زیر جلدی آن، بر فرآیندهای فوق الذکر بررسی شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، حیوانات مرفین سولفات (۱۰ mg/Kg, S.C.) (در گروه‌های وابسته و حذف مرفین) یا نرمال سالین (در گروه شاهد) دو بار در روز (۸ صبح و ۸ شب) به مدت ۱۵ روز متوالی دریافت نمودند. حیوانات گروه‌های شاهد و وابسته از روز ۱۱ الی ۱۵ و گروه حذف مرفین از روز ۱۶ الی ۲۰ تحت آزمایش قرار گرفتند. مطالعه حیوانات، جهت بررسی فرآیند یادگیری فضایی در ماز آبی موریس، به مدت ۴ روز (هر روز چهار تجربه) انجام می‌شد. در خلال این چهار روز، موقعیت سکوی پنهان ثابت باقی می‌ماند. در روز پنجم جهت بررسی فرآیند حافظه فضایی، سکو از آب خارج شده و آزمایش‌ها انجام می‌شد. شاخص‌های یادگیری و حافظه فضایی ثبت شده و به روش آنالیز واریانس (ANOVA) بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که مدت زمان و فاصله طی شده برای یافتن سکوی پنهان و میانگین سرعت شنای حیوانات (در روزهای آموزش) و همچنین درصد زمان و درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف در مرحله probe trial، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه ندارد.

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان می‌دهد که وابستگی به مرفین، ایجاد شده به روش حاضر، هیچگونه اثر معنی‌داری بر فرآیند یادگیری و حافظه فضایی ندارد که ممکن است ناشی از ایجاد تحمل نسبی به مرفین در حیوانات مورد مطالعه باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱- وابستگی به مرفین ۲- ماز آبی موریس ۳- یادگیری و حافظه فضایی ۴- موش صحرایی

\*دکتر علی پورمتعبد I

انتظار محرابی نسب II

فائزه ثریا II

سحر مرادی II

هایده حقیقی‌زاد III

دکتر مسعود طهماسیان IV

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۱/۲۸، تاریخ پذیرش: ۸۶/۶/۲۱

## مقدمه

تعدیل فرآیندهای یادگیری و حافظه توسط مرفین و سایر عوامل اپیوئیدی، در مطالعات متعددی بررسی شده است. بعضی مطالعات نشان داده‌اند که مرفین می‌تواند اثرات دوگانه‌ای در فرآیند مذکور داشته باشد. به طوری که اثرات مرفین در حافظه، وابسته به مدت دوره تجویز و دوز تجویز

اپیوئیدها از جمله مرفین داروهای موثری در درمان درد می‌باشند، اما استفاده طولانی مدت از این داروها دو مسئله مهم تحمل و وابستگی به اپیوئیدها را ایجاد می‌کند. مکانیسم‌های مسئول ایجاد این پدیده‌ها به طور کامل شناسایی نشده‌اند.<sup>(۱)</sup>

(I) دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، طاق بستان، خیابان دانشگاه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران (\*مؤلف مسؤول).

(II) دانشجوی پزشکی

(III) کارشناس زیست‌شناسی

(IV) پزشک عمومی

ایجاد وابستگی به مرفین باشد. لذا، در تحقیق حاضر با ایجاد وابستگی به روش تجویز زیر جلدی (S.C) مرفین به این سؤال پاسخ داده شد که آیا صرف وابستگی به مرفین می‌تواند توجیه کننده تقویت فرآیند یادگیری و حافظه فضایی در مطالعه قلی ما باشد و یا اینکه روش تجویز مرفین در ایجاد پاسخ مذکور موثر است.

### روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تجربی می‌باشد. در این آزمایش، تعداد ۴۶ سر موش صحرایی نر نژاد N-MRI در محدوده وزنی ۳۵۰-۲۵۰ گرم در شروع آزمایش، مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات به تعداد ۲-۳ سر در هر قفس قرار گرفتند و در معرض سیکل نور - تاریکی ۱۲ ساعته و درجه حرارت کنترل شده محیط نگهداری شدند. آزمایشها در مرحله نوری دوره ۲۴ ساعته انجام شد و حیوانات، بجز زمان آزمایش، دسترسی کافی به آب و غذا داشتند.

ماز آبی موریس:

ماز آبی موریس، از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ با قطر داخلی ۱۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر تشکیل شده که تا ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر با آب پر می‌شود. یک سکوی کوچک از جنس پلکسی گلاس شفاف با قطر ۱۰ سانتی‌متر که یک سانتی‌متر زیر آب است، در حوضچه قرار می‌گیرد. موقعیت سکو در طول ۴ روز ابتدای آزمایش ثابت است.

روش آزمایش:

الف) Handling و آماده سازی حیوانات جهت آزمایش: به منظور آشنایی حیوان با شرایط محیط آزمایش و فرد آزمایشگر، هر حیوان به مدت ۵ روز قبل از شروع آزمایشها این مرحله را طی می‌کرد. به نحوی که حیوانات در ۳ روز اول، هر روز به مدت ۱۰ دقیقه با دست آزمایشگر لمس می‌شدند. در روز چهارم و پنجم، سکو در مرکز حوضچه قرار می‌گرفت. در روز چهارم، حوضچه خالی از آب بود و هر حیوان به مدت ۶۰ ثانیه روی سکو قرار می‌گرفت. در روز

دارو و مدل بررسی حافظه در حیوانات می‌باشد. در همین راستا گزارش شده تجویز مرفین قبل از آموزش حیوانات، یادگیری آنها را در ماز Y و مدل‌های یادگیری احترازی فعال و غیر فعال مهار می‌کند. از طرف دیگر، مشخص شده تجویز مرفین باعث ایجاد فراموشی در مدل یادگیری احترازی غیر فعال می‌شود. چنانچه حیوانات مجدداً تحت تجویز مرفین قرار گیرند، فراموشی مذکور بهبود می‌یابد.<sup>(۲)</sup> همچنین شواهد دیگری نشان داده است که آگونیست‌های اپیوئیدی، هنگامی که قبل یا بلافاصله پس از آزمون تزریق شوند، به صورت وابسته به دوز روند فراگیری را در ماز آبی موریس تخریب می‌کنند؛ به طوری که در گروه‌های دریافت کننده دوزهای بالای مرفین (۲۰ mg/Kg) تخریب معنی‌داری نسبت به گروه شاهد ایجاد می‌شود.<sup>(۳)</sup> نتایج مطالعه‌ای گویای آن است که تجویز مزمن مرفین با روش خوراکی در موش صحرایی، باعث کاهش یادگیری فضایی می‌شود، اما هیچ گونه اثری بر حافظه فضائی و فعالیت حرکتی ندارد.<sup>(۴)</sup> از طرفی، نتایج مطالعه قبلی ما نشان داد که ایجاد وابستگی خوراکی به مرفین باعث تقویت حافظه و یادگیری فضائی در موشهای صحرائی در ماز آبی موریس می‌شود، و این اثر تقویتی با ورود حیوان به مرحله سندرم ترک از بین می‌رود.<sup>(۵)</sup> از سوی دیگر، مطالعات اندکی در رابطه با اثرات حذف مرفین در حیوانات وابسته بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضائی وجود دارد.<sup>(۶)</sup> در انسان، قطع مصرف اپیوئیدها پس از یک دوره طولانی مصرف، منجر به ایجاد سندرم ترک اعتیاد می‌شود. این سندرم در افرادی که به طور طولانی مدت مواد مخدر مصرف نموده‌اند، با تجویز نالوکسان نیز بروز می‌کند. نوروفیزیولوژی علائم سندرم ترک اعتیاد، به طور کامل شناسایی نشده است. سیستم‌های نوروترانسمیتری متعددی شامل سیستم‌های دوپامینرژیک، کولینرژیک، نورآدرنرژیک و گلوتاماترژیک در رابطه با ایجاد علائم سندرم ترک اعتیاد معرفی شده‌اند.<sup>(۷)</sup>

همانگونه که از شواهد فوق بر می‌آید به نظر می‌رسد اثر اپیوئیدها بر فرآیند یادگیری و حافظه وابسته به دوز و روش تجویز مرفین و مدل‌های بررسی حافظه و ایجاد و یا عدم

دارو و گروه‌های آزمایش:

۱) تجویز مرفین (Morphine Administration): محلول مرفین سولفات (تماد-ایران)، ساعت ۸ صبح و ۸ شب (دو بار در هر روز) و با دوز ( $10 \text{ mg/Kg}$ , s.c.) به حیوانات تزریق شد. لازم به ذکر است که تزریق سالیان در گروه شاهد با فواصل زمانی فوق و با همین روش انجام می‌شد.

کلیه تزریقات با حجم ( $1 \text{ ml/kg}$ ) انجام شد. در گروه وابسته هم‌زمان با آزمایش‌های ماز آبی موریس تزریق مرفین ادامه پیدا کرد. ولی در گروه حذف مرفین، آزمایش‌های ماز آبی موریس پس از قطع تجویز مرفین، صورت گرفت.

۲) گروه‌های آزمایش: در ابتدای آزمایش حیوانات به ۵ گروه تقسیم شدند. جهت بررسی ایجاد وابستگی، دو گروه اول ( $n=10$  در هر گروه) به مدت ۱۵ روز تحت تجویز مرفین (گروه وابسته) یا نرمال سالیان (گروه شاهد) قرار گرفتند. در روز شانزدهم، حیوانات هر دو گروه توزین شده و سپس نالوکسان هیدروکلراید ( $4 \text{ mg/kg}$ , i.p.) به آنها تزریق و علائم سندرم ترک به مدت بیست دقیقه بررسی شد. این علائم عبارت بودند از: تکان دادن سر، اسهال، افتادگی پلک چشم، سایش دندانها به یکدیگر، درد در شکم و انقباضات آن که با خزیدن حیوان همراه می‌شود (writhing)، خروج منی، لرزش پنجه، حساسیت نسبت به لمس و جابجا نمودن و همچنین کاهش وزن طی ۲۴ ساعت پس از تجویز نالوکسان نسبت به قبل از تجویز آن.

سه گروه دیگر از حیوانات، جهت مطالعات در ماز آبی موریس به شرح زیر مورد استفاده قرار گرفتند:

الف) گروه وابسته ( $n=7$ ): حیوانات این گروه به مدت ۱۵ روز تحت تجویز مرفین قرار گرفتند.

ب) گروه شاهد ( $n=10$ ): حیوانات این گروه به مدت ۱۵ روز تحت تجویز نرمال سالیان قرار گرفتند.

ج) گروه حذف مرفین ( $n=9$ ): حیوانات این گروه به مدت ۱۵ روز تحت تجویز مرفین و از روز شانزدهم الی بیستم تحت تجویز نرمال سالیان قرار گرفتند.

پنجم حوضچه از آب ( $20 \pm 2^\circ \text{C}$ ) پر می‌شد و هر حیوان، مشابه روز چهارم، به مدت ۶۰ ثانیه روی سکو قرار می‌گرفت. هرگاه حیوان از سکو وارد آب می‌شد، مجدداً روی سکو قرار می‌گرفت؛ به نحوی که در نهایت، هر حیوان به مدت ۶۰ ثانیه روی سکو باقی بماند.<sup>(۸)</sup>

ب) روش اجرای آزمایش در ماز آبی موریس: در ابتدای آزمایشها، سکو در مرکز ربع دایره شمال غربی حوضچه قرار گرفته و هر موش به مدت ۵ روز مورد آزمایش قرار می‌گرفت. در طی روزهای آزمایش، یک فرستنده نور مادون قرمز به موش متصل شده و مسیر شنای حیوان از طریق یک دوربین مدار بسته که نور مادون قرمز را ردیابی می‌کند، به کامپیوتر انتقال یافته و پارامترهای مختلف از جمله زمان لازم و مسافت طی شده برای یافتن سکو، و سرعت شنای حیوان (در طی روزهای آزمایش) و مدت زمان و مسافت طی شده توسط حیوان در ربع دایره هدف که در طی روزهای آزمایش سکو در آن قرار داشت (در مرحله probe trial)، به وسیله کامپیوتر ثبت و آنالیز می‌گردید.

در چهار روز اول هر روز یک بلاک (هر بلاک شامل چهار کار آزمایی) انجام می‌شد. در هر کار آزمایی، حیوان به طوری که صورتش به طرف دیواره حوضچه باشد، از یکی از چهار نقطه (شمال، جنوب، شرق یا غرب) در آب رها می‌شد. هر یک از چهار نقطه شروع در هر بلاک یک بار استفاده می‌شد و ترتیب آن‌ها به طور تصادفی توسط کامپیوتر تعیین می‌گردید.

یک کار آزمایی زمانی تمام می‌شد که موش بر روی سکو رفته و یا بدون یافتن سکو ۶۰ ثانیه سپری می‌شد، سپس ۳۰ ثانیه فرصت نشستن بر روی سکو به حیوان داده می‌شد. سه کار آزمایی باقی مانده نیز به همین ترتیب صورت می‌گرفت. در روز پنجم، (probe trial) جهت بررسی دقت و صحت یادگیری اولیه انجام می‌شد. در این مرحله از آزمایش، سکو از حوضچه خارج شده و حیوان طی یک بلاک (شامل ۴ کار آزمایی)، اما فقط از یکی از نقاط فوق‌الذکر (که توسط کامپیوتر تعیین می‌شد)، در آب رها می‌گردید. دمای آب برای هر موش در تمامی ۵ روز آزمایش ثابت بود.

آزمایشهای ماز آبی موریس در حیوانات گروه وابسته و شاهد از روز ۶ الی ۱۵ و گروه حذف مرفین از روز ۱۶ الی ۲۵ انجام شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: تفاوت در مدت زمان لازم و مسافت طی شده برای یافتن سکو و سرعت شنای حیوان در روزهای آزمایش و مدت زمان و مسافت طی شده توسط حیوان در ربع دایره هدف در مرحله‌ی probe trial توسط کامپیوتر ثبت شده و با روش آماری آنالیز واریانس (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین، از آنالیز Post hoc از نوع تست توکی، جهت تعیین تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. نمودارها به صورت  $Mean \pm SEM$  نشان داده شده‌اند.

در کلیه آزمایشها، حداقل سطح تفاوت که از لحاظ آماری قابل قبول باشد  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

۱- بررسی ایجاد وابستگی به مرفین: تعداد ۱۰ سر از حیوانات وابسته و تعداد ۱۰ سر از حیوانات گروه شاهد تحت تجویز نالوکسان هیدروکلراید (۴ mg/kg, i.p.) قرار گرفتند. در حیوانات گروه وابسته، حداقل ۵ علامت سندرم ترک شامل لرزش پنجه، اسهال، writhing، افتادگی پلک چشم و سایش دندانها به یکدیگر تا ۲۰ دقیقه پس از تجویز نالوکسان دیده شد؛ که از بین این علائم writhing و اسهال مشهودتر بود. حیوانات در طی ۲۴ ساعت پس از تجویز نالوکسان کاهش وزن ( $2\% \pm 7\%$ ) را نسبت به قبل از تجویز نالوکسان نشان دادند.

تجویز نالوکسان در گروه شاهد هیچ گونه علائم سندرم ترک را به وجود نیاورد، در ضمن حیوانات گروه وابسته در طی تجویز مزمن مرفین و قبل از تجویز نالوکسان، علائم رفتاری یا بیماری خاصی را نشان ندادند.

۲- بررسی روند یادگیری فضایی در طی روزهای آموزش:

الف - بررسی نتایج حاصل از میانگین زمان لازم برای یافتن سکو (escape latency) در طی روزهای آموزش در ۳ گروه مورد مطالعه:

نتایج نشان می‌دهد که میزان escape latency بین چهار روز آموزش در گروه شاهد [ $F_{(3,18)} = 15.4436, p < 0.0001$ ]; وابسته [ $F_{(3,18)} = 5.8415, p < 0.01$ ]; و حذف مرفین [ $F_{(3,18)} = 7.7415, p < 0.01$ ]; تفاوت دارد. این تفاوت، بین روزهای اول و چهارم در گروه شاهد ( $p < 0.01$ )، وابسته ( $p < 0.01$ ) و حذف مرفین ( $p < 0.01$ ) معنی‌دار است. از طرف دیگر، آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که در هیچ یک از روزهای آموزش تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه وجود ندارد (شکل شماره ۱A).

ب - بررسی نتایج حاصل از میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو، در طی روزهای آموزش در ۳ گروه مورد مطالعه:

این نتایج نشان می‌دهد که به طور کلی، بین میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو در طی چهار روز آموزش در گروه شاهد [ $F_{(3,27)} = 13.4720, p < 0.0001$ ]; وابسته [ $F_{(3,27)} = 9.8373, p < 0.001$ ]; و حذف مرفین [ $F_{(3,27)} = 7.4188, p < 0.01$ ]; تفاوت وجود دارد. این تفاوت، بین روز اول و چهارم در گروه شاهد ( $p < 0.01$ )، وابسته ( $p < 0.01$ ) و حذف مرفین ( $p < 0.01$ ) معنی‌دار است.

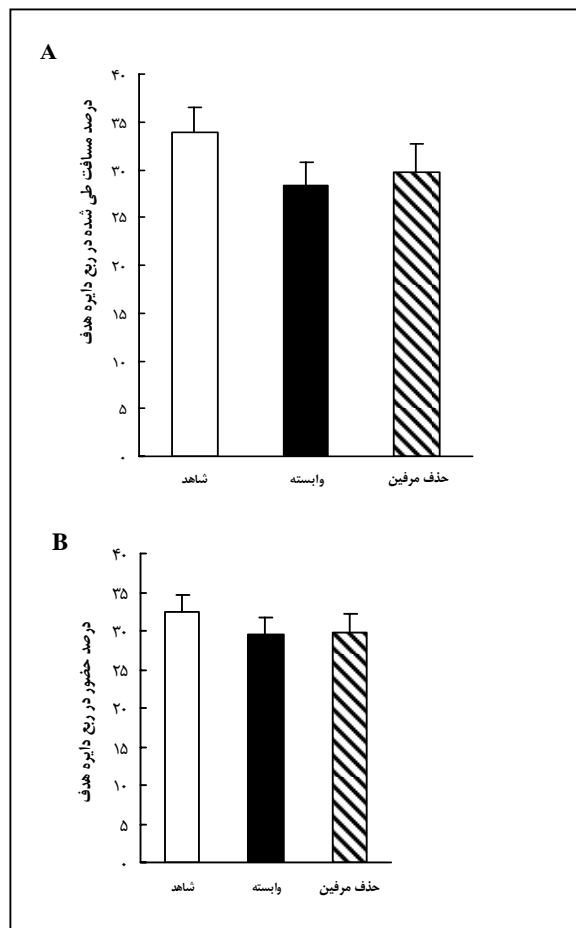
در این رابطه نیز، آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که در هیچ یک از روزهای آموزش تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه وجود ندارد (شکل شماره ۱B).

ج- بررسی نتایج حاصل از میانگین سرعت شنای حیوانات در کل روزهای آموزش در ۳ گروه مورد مطالعه:

نتایج حاصل گویای این واقعیت است که تزریق مرفین باعث کاهش سرعت شنای حیوانات شد. همچنین، سرعت شنا در گروه سندرم ترک تا حدودی بهبود یافت. اما با این وجود در این شاخص یادگیری نیز، تفاوت بین گروه‌ها از لحاظ آماری معنا دار نمی‌باشد (شکل شماره ۱C).

۳- بررسی روند تثبیت حافظه فضایی در مرحله probe trial:

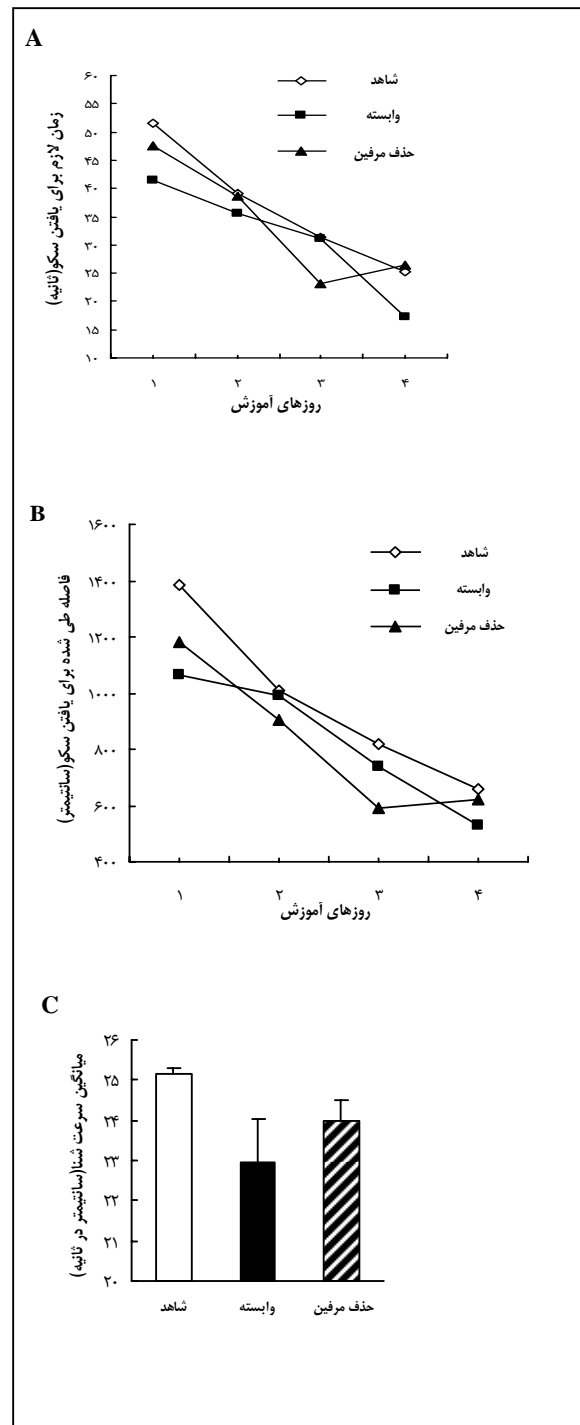
الف - بررسی نتایج حاصل از درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف: درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف (ربع دایره‌ای که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت) در گروه وابسته و حذف مرفین، کمتر از گروه شاهد است اما این تفاوت نیز از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد (شکل شماره A ۲). ب - بررسی نتایج حاصل از درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در مرحله probe trial: درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در مرحله probe trial نیز، در بین سه گروه مطالعه بررسی شد. نتایج حاکی از آن است که هیچ تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد (شکل شماره B ۲).



نمودار شماره ۲- مقایسه درصد مسافت طی شده (A) و درصد

حضور (B) در ربع دایره هدف در مرحله Probe trial.

نمودارها به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند.



نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین زمان لازم (A) و فاصله طی

شده (B) برای یافتن سکو و میانگین سرعت شنا در روزهای آموزش (C)

بین گروه‌های مورد مطالعه.

نمودارها به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند.

بحث

اعتیاد به اپیوئیدها، پدیده‌ای با پیچیدگی‌های فیزیولوژیک و اجتماعی است و با وجود تحقیقات فراوان، مکانیسم‌های دقیق مسئول گسترش وابستگی به اپیوئیدها و بازگشت اثرات آنها هنوز نامشخص است.

برای بررسی اثرات وابستگی به مرفین، مدل‌های حیوانی متعددی به کار می‌رود. در این تحقیق، از تزریق زیر جلدی طولانی مدت با دوز ثابت روزانه استفاده شد. ایجاد وابستگی با این روش در تجربیات ما بررسی شد و تمام حیوانات وابسته در اثر تجویز نالوکسان علائم سندرم ترک را نشان دادند. بروز علائم سندرم ترک با تجویز نالوکسان، شاخص مطمئنی از پیدایش وابستگی در حیوانات است.

در مطالعه حاضر، حیوانات گروه شاهد نیز نالوکسان دریافت کردند، ولی علائم سندرم ترک را آشکار ننمودند؛ که خود تائیدی بر اثرات این روش تجویز مرفین در ایجاد وابستگی بود.

مطالعات در خصوص اعتیاد به مواد مخدر بر روی برخی نواحی مغزی از جمله کورتکس پری‌فرونتال، هسته آکومبنس و ناحیه استریاتوم متمرکز شده است که این نواحی عموماً مرتبط با سیستم پاداش در حیوانات می‌باشند.

هیپوکمپ، یکی از نواحی مغز است که نقش کلیدی در کدگذاری اطلاعات در سیستم اعصاب مرکزی دارد. از طرف دیگر، اثر استفاده مزمن از اپیوئیدها در عملکرد هیپوکمپ، در ایجاد پاسخهای پاداشی حیوان و همچنین رفتار جستجوی مواد (drug seeking) بسیار کم شناسائی شده است. گزارش شده که (LTP=Long term potentiation) هیپوکمپ، توسط تجویز طولانی مدت مرفین یا هروئین شدیداً دستخوش تغییراتی می‌گردد، که این یافته مؤید اثر تجویز طولانی مدت اپیوئیدها بر عملکرد هیپوکمپ می‌باشد. همچنین، مشخص شده که کاهش ظرفیت LTP القاء شده توسط تجویز طولانی مدت مرفین، می‌تواند به وسیله تجدید مواجهه حیوانات با اپیوئیدها بهبود یابد.

لذا، می‌توان نتیجه گرفت که شکل‌پذیری هیپوکمپ متعاقب تجویز طولانی مدت اپیوئیدها، وابسته به تجویز مجدد اپیوئید است. به بیان دیگر، عملکرد هیپوکمپ به حضور اپیوئیدها عادت کرده است. همچنین، مشخص شده که روش ماز آبی موریس، یک آزمون رفتاری مفید برای بررسی یادگیری فضائی وابسته به هیپوکمپ است.<sup>(۹)</sup>

در مطالعه حاضر، از شاخصه‌های escape latency و مسافت طی شده برای یافتن سکو، میانگین سرعت شنا در طی روزهای آموزش به عنوان شاخصه‌های یادگیری فضایی و از شاخصه‌های میزان حضور و درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف در مرحله probe trial به عنوان شاخصه‌های حافظه فضایی در ماز آبی موریس استفاده شد. استفاده از شاخص‌های مذکور قبلاً نیز گزارش شده است و بیان شده بود که چنانچه، حیوانات در روز آخر آموزش بتوانند سکوی پنهان در آب را در زمان و مسافت کمتری نسبت به روز اول پیدا کنند، روند یادگیری در آن‌ها مثبت تلقی می‌شود؛ مشروط بر این که سرعت شنای حیوانات کاهش نیافته باشد.

شاخص‌های مورد ارزیابی در مرحله probe trial نیز مشخص کننده میزان تثبیت حافظه فضایی است. در مرحله probe trial، چنانچه حیوانات در طی روزهای آموزش، محل سکو را بر حسب علائم محیطی خارج ماز یاد گرفته باشند باید درصد بالایی از زمان و مسافت شنا را در ربع دایره هدف طی نمایند.<sup>(۱۰)</sup>

بلوک LTP یا اشباع آن در هیپوکمپ موش صحرایی، عملکرد حیوانات را در ماز آبی موریس تخریب می‌کند. همچنین، مشخص شده استفاده مزمن از اپیوئیدها باعث نقصان عملکرد حیوانات در ماز آبی موریس می‌شود که به موازات کاهش LTP هیپوکمپ اتفاق می‌افتد. چنانچه این حیوانات، مجدداً در معرض اپیوئیدها قرار گیرند، هم ظرفیت LTP و هم عملکرد حیوانات در ماز آبی موریس به حالت طبیعی باز می‌گردد.<sup>(۹)</sup>

نتایج گزارش فوق با مطالعه حاضر همخوانی دارد. زیرا در مطالعه حاضر حیوانات وابسته به مدت ۱۵ روز مرفین دریافت کردند و در پنج روز آخر پس از اولین دریافت مرفین، روزانه در ماز آبی موریس بررسی شدند.

نتایج نشان داد که عملکرد حیوانات در هیچ یک از روزهای آموزش و یا probe trial با گروه شاهد تفاوت معناداری ندارد. به بیان دیگر، همانگونه که حیوانات گروه شاهد در طی روزهای آموزش موفق به یادگیری محل سکوی پنهان شدند، حیوانات گروه وابسته نیز در این امر موفق بودند. لذا، می‌توان گفت که میزان یادگیری و حافظه در گروه وابسته معادل گروه شاهد است.

در توجیه بیشتر این یافته، قابل ذکر است که فقدان گیرنده‌های  $\mu$  در موشهای سوری باعث تخریب یادگیری فضائی در ماز آبی موریس و همچنین کاهش LTP در شکنج دندانه‌ای هیپوکمپ می‌شود.<sup>(۱۰)</sup> لذا، به نظر می‌رسد فعال شدن گیرنده‌های  $\mu$  اپیوئیدی جهت تثبیت حافظه فضائی ضروری است. از طرف دیگر، شاید بتوان فعال شدن برخی مسیرهای نوروترانسمیتری را نیز در این رابطه مؤثر دانست. زیرا مشخص شده که فعال شدن مسیرهای کولینرژیک مغزی در فرآیندهای یادگیری، توجه و حافظه دخیل می‌باشند.

مطالعات بسیاری تداخل عمل سیستم اپیوئیدی و کولینرژیک را در یادگیری و حافظه مورد تاکید قرار می‌دهند.<sup>(۱۰)</sup>

برخی مطالعات نشان می‌دهند که آگونیست‌های اپیوئیدی نظیر مرفین و بتا اندورفین، تمایل زیادی به گیرنده‌های اپیوئیدی  $\mu$  دارند که سبب مهار فعالیت کولینرژیک هیپوکمپ می‌شود. به علاوه، گزارش شده که گیرنده‌های  $\mu$  و  $\delta$  در محل پایانه‌های کولینرژیک قرار دارند و این پایانه‌ها به طور طبیعی تحت مهار تونیک سیستم اپیوئیدی قرار می‌گیرند. متعاقب تجویز مزمن مرفین، گیرنده‌های مسئول ایجاد اثرات مهاری، وارد فاز تحمل شده و لذا مهار از روی پایانه‌های کولینرژیک برداشته می‌شود.<sup>(۶)</sup>

در مطالعه حاضر نیز به نظر می‌رسد ایجاد یادگیری در گروه وابسته که قابل مقایسه با حیوانات گروه شاهد می‌باشد، به دلیل وقوع تحمل به مرفین متعاقب تجویز طولانی مدت آن باشد.

نتایج قسمتی دیگر از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که حذف مرفین متعاقب تجویز طولانی مدت آن، تاثیری بر فرآیندهای یادگیری و حافظه ندارد. در همین رابطه گزارش شده که تجویز نالوکسان اثرات رفتاری ناشی از اسکاپولامین (آنتاگونیست کولینرژیک) را بر می‌گرداند، که این امر می‌تواند ناشی از این واقعیت باشد که نالوکسان احتمالاً نورون‌های کولینرژیک سیتوم میانی را از اثرات مهاری اپیوئیدها آزاد می‌کند و از این طریق باعث افزایش آزاد شدن استیل کولین در هیپوکمپ می‌شود. بنابراین، احتمال می‌رود که آزاد شدن فعالیت کولینرژیک، بر اثر پدیده تحمل اپیوئیدی، باعث ایجاد اثرات فوق باشد. همچنین، مشخص شده که در هنگام ترک مرفین آزاد شدن استیل کولین در هسته آکومبوس و کورتکس پری فورتال افزایش می‌یابد.<sup>(۶)</sup> بنابراین، شاید در مطالعه حاضر نیز حذف مرفین باعث افزایش آزاد شدن استیل کولین در هیپوکمپ شده و از این طریق عملاً میزان یادگیری و تثبیت حافظه در گروه حذف مرفین قابل مقایسه با گروه‌های شاهد و وابسته باشد.

از طرف دیگر، ممکن است اثر مرفین در فرآیند یادگیری و حافظه از طریق سیستم‌های دیگر غیر از سیستم کولینرژیک وساطت شود. برای مثال، گزارش شده که گلوکوکورتیکوئیدها و گیرنده‌های آنها در فرآیندهای یادگیری و حافظه موثرند.<sup>(۱۱)</sup> تجویز دوزهای افزایش یابنده مرفین به مدت چهار روز، غلظت کورتیکوسترون پلاسما را افزایش می‌دهد. قطع تجویز مرفین و یا تجویز نالوکسان، باعث افزایش ترشح کورتیکوسترون می‌شود.<sup>(۶)</sup>

در رابطه با فعالیت حرکتی حیوانات نیز گزارش شده که تجویز مرفین باعث هایپرترمی و سختی عضلات می‌شود، که این دو اثر می‌تواند یادگیری فضایی را تخریب نماید.<sup>(۳)</sup> اما، به نظر می‌رسد اثرات حاصله وابسته به دوز بوده و در دوز حاضر به حدی موثر نیست که باعث تخریب عملکرد موش‌ها

طرف دیگر، حذف مرفین نیز نتوانست اثراتی را در روند یادگیری و تثبیت حافظه بر جای بگذارد.

#### تقدیر و تشکر

این مقاله موضوع طرح تحقیقاتی شماره ۸۴۰۰۲ مصوب حوزه معاونت محترم آموزشی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد. نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین محترم حوزه مذکور اعلام می‌دارند.

#### فهرست منابع

1- Lu L, Zeng S, Liu D, Ceng X. Inhibition of the amygdale and hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II attenuates the dependences and relapse to morphine differently in rats. *Neurosci Lett* 2000; 29: 191-195.

2- Zarrindast MR, Rezayof A. Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. *Eur J Pharmacol* 2004; 497: 197-204.

3- MC.Namara RK, Skelton RW. Pretraining morphine impairs acquisition and performance in the Morris water maze: motivation reduction rather than amnesia. *Psychobiol*; 1991. 19: 313- 320.

4- Motamedi F, Ghoshoni M, Ghiafeh Davoodi F, Naghdi N. Comparison of learning and memory in morphine dependent rats using different behavioral models. *Iranian J Pharmaceutical Res* 2003; 2: 225-230.

۵- پورمتعبد علی، طهماسیان مسعود، شاهی مریم، کرمی داراخوانی حسین، فتح الهی یعقوب. بررسی اثر وابستگی به مرفین بر یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی نر، فیزیولوژی و فارماکولوژی. ۱۳۸۴؛ ۹ (۲): صفحات: ۱۲۷-۱۳۶.

6- Li Z, Wu C F, Pei G, Xu N J. Reversal of morphine induced memory impairment in mice by withdrawal in morris water maze: possible involvement of cholinergic system. *Pharmacol Biochem Behav* 2001; 68: 507-513.

7- Noda Y, Nabeshima T. Opiate physical dependence and N-methyl-D-aspartate receptors. *Eur J Pharmacol* 2004; 500: 121-128.

8- Kikusui T, Tonohiro T, kaneko T. Simultaneous evaluation of spatial working memory and motivation by the allocentric place discrimination task in the water maze in rat. *J Vet Med Sci* 1999; 6: 673-681.

در ماز آبی موریس شود. ولی سختی عضلانی تا حدودی فعالیت حرکتی حیوانات را کاهش داده و لذا سرعت شنا در حیوانات وابسته تا اندازه‌ای کمتر از حیوانات گروه شاهد می‌باشد. این اثر پس از قطع تجویز مرفین تا میزان زیادی از بین رفته و لذا سرعت شنا در حیوانات گروه حذف مرفین به گروه شاهد نزدیک شده است.

از طرف دیگر شاخصه مسافت طی شده برای یافتن سکو تحت تاثیر سرعت شنا قرار نگرفته، لذا به نظر می‌رسد، اثر مرفین در ایجاد سختی عضلانی، کوتاه مدت و نسبی بوده و با قطع تجویز آن این اثر نیز قابل برگشت است.

به هر حال با مقایسه نتایج حاصل از تحقیق حاضر با مطالعه قبلی ما<sup>(۵)</sup> مشخص می‌شود که تغییر روش ایجاد وابستگی به مرفین می‌تواند تاثیرات متفاوتی بر روند یادگیری و حافظه فضایی در موشهای صحرایی ایجاد نماید. به طور یقین، این تفاوتها ناشی از تاثیر گوناگون روشهای مختلف ایجاد وابستگی بر نواحی مغزی درگیر در فرآیند یادگیری و حافظه فضایی از جمله هیپوکامپ می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد با انجام مطالعات بیشتر، این تفاوتها در درمان معتادانی که با روشهای مختلف تجویز مواد افیونی به این مواد وابسته شده‌اند، مورد توجه قرار گیرد. البته بدیهی است که محدودیت پژوهش حاضر و مطالعات مشابه، انجام آن در نمونه‌های انسانی است که تا حدودی تعمیم دادن یافته‌های این تحقیقات را به انسان مشکل می‌سازد. یقیناً مطالعات تکمیلی لازم است تا مشخص نماید که چه سیستم‌های نوروترانسمیتری در ایجاد پاسخهای متفاوت در دو روش وابستگی خوراکی و تزریق زیر جلدی موثرند.

#### نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، یافته‌های این پژوهش نشان داد که ایجاد وابستگی به مرفین به روش تزریق زیر جلدی، هیچ‌گونه اثر تخریبی یا تسهیل‌کنندگی بر روند یادگیری و حافظه فضایی در مدل ماز آبی موریس در موش صحرایی نر ندارد. از



9- PU L, Bao GB, Xu N j, Ma L, Pei G. Hippocampal long-term potentiation is reduced by chronic opiate treatment and can be restored by re-exposure to opiates. J Neurosci 2002; 22: 1914-1921.

10- Jang CG, Lee SY, Yan JJ, Song DK, Loh HH, Ho IK. Impaired water maze learning in  $\mu$ -opioid receptor knockout mice. Mol Brain Res 2003; 117: 68-72.

11- Roozendaal B. Glucocorticoids and regulation of memory consolidation. Psychonoroendocrinol; 2000; 25: 213-238.

# *The Effect of Morphine Dependency on Spatial Learning and Memory in Male Rat*

<sup>I</sup>  
\*A. Pourmotabbed, PhD    <sup>II</sup> E. Mehrabi Nasab    <sup>II</sup> F. Soraya    <sup>II</sup> S. Moradi  
<sup>III</sup>  
H. Haghighizad, BSc    <sup>IV</sup> M. Tahmassian, MD

## *Abstract*

**Background & Aim:** Opiates addiction is a phenomenon with complex physiological and social causes and consequences. The exact mechanisms of development of dependency and relapse remain unclear. Among the several possible mechanisms, the role of learning and memory in opiate dependency and relapse has received considerable attention in recent years. Therefore, in the current study the effect of morphine dependency induced by repeated subcutaneous injection of morphine on the above-mentioned parameters was examined.

**Material and Method:** In this experimental study, animals in both dependent and withdrawal groups received morphine sulfate (10 mg/kg, s.c.) and normal saline was given to the control group. The administration of morphine sulfate and normal saline was done twice per day (8:00 AM & 8:00 PM) for 15 consecutive days. Dependent and control groups were observed from the 11th to 15th day but withdrawal animals were studied from the 16th to the 20th day. The animals were tested for four consecutive days (4 trials/day) to evaluate spatial learning process. During these 4 days (training days) the position of the hidden platform was unchanged. On the fifth day (probe trial) the platform was removed from maze to evaluate spatial memory process. The recorded spatial learning and memory parameters were subjected to ANOVA.

**Results:** The data showed that traveled times and distances to find the hidden platform, the mean of swimming speed on training days, and also the percentage of times and distances traveled in the target quarter in the probe trial stage were not statistically different among the studied groups.

**Conclusion:** These findings clearly imply that morphine dependency induced by the current method has no significant effect on spatial learning and memory, which may result from a relative tolerance to morphine in dependent animals.

**Key Words:** 1) Morphine Dependency    2) Morris Water Maze (MWM)  
3) Spatial Learning and Memory    4) Rat

<sup>I</sup>) Associate Professor of Physiology. Faculty of Medicine. Daneshgah St., Taghe Bostan, Kermanshah University of Medical Sciences and Health Services. Kermanshah, Iran. (\*Corresponding Author)

<sup>II</sup>) Medical Student.

<sup>III</sup>) BS in Biology.

<sup>IV</sup>) General Practitioner.